



# GATA-4 incompletely substitutes for GATA-1 in promoting both primitive and definitive erythropoiesis in vivo

著者	大村 咲恵
内容記述	"2006" Offprint. Originally published in: The journal of biological chemistry, v. 281, no. 43, pp. 32820-32830, Oct. 27, 2006 Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (A), no. 4412, 2007.3.23 Accompanied by 2 subarticles Includes bibliographical references
発行年	2007
その他のタイトル	赤血球造血に必要なGATA-1の機能ドメイン解析
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/91558">http://hdl.handle.net/2241/91558</a>

氏 名（本籍）	おおむらさきえ 大村 咲 恵（北 海 道）		
学 位 の 種 類	博 士（医 学）		
学 位 記 番 号	博 甲 第 4412 号		
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科		
学 位 論 文 題 目	<b>GATA-4 Incompletely Substitutes For GATA-1 in Promoting Both Primitive and Definitive Erythropoiesis in Vivo</b> （赤血球造血に必要な GATA-1 の機能ドメイン解析）		
主 査	筑波大学教授	博士（医学）	澁 谷 彰
副 査	筑波大学教授	医学博士	須磨崎 亮
副 査	筑波大学教授	医学博士	今 川 重 彦
副 査	筑波大学講師	博士（理学）	依 馬 正 次

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### （目的）

GATA 転写因子群は血球型 GATA 因子（GATA-1, -2, -3）と内臓型 GATA 因子（GATA-4, -5, -6）に分類され、各因子間で高度に保存された 2 つの Zn フィンガー（NF, CF）を有している。*Gata1* 遺伝子は X 染色体上に存在するため、*Gata1* 遺伝子ノックダウンオスマウス（*Gata1.05/Y*）は胎生 12.5 日（E12.5）までに胎児型造血の障害により死亡する。しかし、*Gata1* 遺伝子の血球系における発現を再現できる制御領域 *G1HRD*（*Gata1* gene hematopoietic regulatory domain）を用いて、GATA-1 や GATA-2, GATA-3 をトランスジーンとして *Gata1.05/Y* に発現させると、その胎生致死を回避できる（機能的レスキュー法）。これらの結果は *Gata1* 遺伝子の発現制御様式が GATA-1 の機能発現に重要であること、また血球型 GATA 因子は相互に分子機能を代償し得ることを示している。

そこで本研究では、内臓型 GATA 因子である GATA-4 を用いて機能的レスキュー法を行い、血球型と内臓型の GATA 因子群における分子機能の相同性と差異を解析し、赤血球造血に必要な GATA-1 の機能ドメインを明らかにすることを目的とした。

### （対象と方法）

*G1HRD* の制御下に GATA-4 を発現するトランスジェニックマウス（G4Tg）と、N 末端から NF までが GATA-4, CF から C 末端までが GATA-1 のキメラタンパク質を発現するトランスジェニックマウス（G4G1Tg）を作製した。G4Tg マウス及び G4G1Tg マウスのオスを *Gata1* 遺伝子ノックダウンメスマウス（*Gata1.05/X*）と交配し、G4Tg 及び G4G1Tg を発現する *Gata1.05/Y* が胎生致死を回避するか検討した。また、これらのマウス胎仔を用いて胎児型造血および成人型造血の解析を行った。

### （結果）

G4Tg を発現する *Gata1.05/Y*（G4R）は、*Gata1.05/Y* よりも延命したが、E16.5 までに全例死亡した。

G4R では胎児型造血の初期段階における分化障害は改善されたが、終末分化の過程において分化障害が認められた。さらに胎仔肝臓を用いた FACS 解析、コロニーアッセイ等から成人型赤血球にも分化障害があることが明らかになった。

GATA-2, -3 では胎生期における GATA-1 の機能を代償できたが、GATA-4 では完全には代償できないことから、GATA 因子間で高度に保存されている Zn フィンガーのアミノ酸配列を比較したところ、血球型 GATA 因子では保存されているが内臓型 GATA 因子では保存されていないアミノ酸残基が、特に CF 及びその近傍に多く分布していた。そこで、これらの 12 アミノ酸残基中 10 残基が GATA-1 型になるような G4G1 キメラタンパク質を発現する G4G1Tg マウスを作製し、*Gata1.05/X* と交配させた。

G4G1Tg を発現する *Gata1.05/Y* (G4G1R) は、胎児型赤血球の分化障害が G4R と比べて著明に改善し、G4R で多く観察されたアポトーシスを起こした胎児型赤血球の割合も減少した。しかしながら、成人型赤血球では G4R の場合と同様に分化障害が確認された。

#### (考察)

本研究では、胎児型造血の初期段階では GATA-4 によって GATA-1 の機能を代償できるが、胎児型造血の終末分化及び成人型造血における GATA-1 の機能を GATA-4 では完全には代償できないことを機能的レスキュー法により明らかにした。また、G4G1 キメラタンパク質により胎児型造血障害が改善したことは、GATA-1 の C 末端領域が重要であることを示唆している。C 末端領域に存在する CF は DNA 結合に必須のドメインであり、また他の転写因子等との結合にも関与する。さらに、CF 近傍領域には、GATA-1 の self-association やアセチル化部位となる重要なリジン残基が存在する。本研究では C 末端領域のどの部位が胎児型造血に重要で、それらはどのような分子機能を有しているのかを完全には明らかにできなかった。しかしながら、内臓型 GATA 因子 GATA-4 を用いた機能的レスキュー法を行うことによって、赤血球造血に重要な GATA-1 の機能ドメインを個体レベルで効率的に解析することができた。同様のアプローチはファミリーを形成し多様な機能を持つ他の転写因子群の解析にも応用できると考えられる。

#### (結論)

GATA-1 の C 末端領域は、胎児型赤血球の分化と生存に重要であり、対応する GATA-4 の領域では完全には代償できない。また、成人型造血では GATA-1 の C 末端領域に加えて N 末端領域にも対応する GATA-4 の領域では代償できない重要な機能が存在する。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、機能的レスキュー法を用いて GATA-1 の赤血球造血に必要な機能ドメインを明らかにした研究で学術的に価値の高い論文である。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。